DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Обзоры

Сулейманова С.Б.

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА ЭТИОЛОГИЮ И ПАТОГЕНЕЗ КИСТО-АДЕНОМАТОЗНОЙ МАЛЬФОРМАЦИИ ЛЁГКИХ У ДЕТЕЙ. ЧАСТЬ I*

АО «Медицинский университет Астана» МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан, 010000

Обзор посвящен современным представлениям этиологии, патогенеза, методам диагностики и хирургического лечения кисто-аденоматозной мальформации у детей. Проведен анализ научной литературы отечественных и зарубежных авторов, описаны эволюция молекулярно-генетических и цитогенетических исследований, роль гистохимического и ультраструктурного анализа в пред- и послеродовой диагностике врожденных пороков легких у детей. Представлены мнения ряда авторов относительно сроков и тактики хирургического вмешательства, а также преимущества минимально инвазивной хирургии врожденных аномалий развития легких.

Ключевые слова: *кисто-аденоматозная мальформация легких; дети.*

Для цитирования: Сулейманова С.Б. Современные взгляды на этиологию и патогенез кисто-аденоматозной мальформации лёгких у детей. Часть I. *Детская хирургия*. 2019; 23(2): 78-85. DOI: http://dx.doi.org// 10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85

Для корреспонденции: Сулейманова С.Б., *кандидат мед. наук*, ассистент кафедры детской хирургии АО «Медицинский университет Астана» МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан, 010000. E-mail: saule_suleiman@mail.ru

Suleymanova S.B.

MODERN VIEWS ON ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF CYSTIC-ADENOMATOUS PULMONARY MALFORMATION IN CHILDREN. PART I

Astana Medical University, Nur-Sultan, 010000, Kazakhstan

The review is devoted to modern ideas of etiology, pathogenesis, methods of diagnosis and surgical treatment of cystic adenomatous malformation in children. There was performeв the analysis of the scientific literature of domestic and foreign authors, the evolution of molecular genetic and cytogenetic studies was described, the role of histochemical and ultrastructural analysis in pre- and postnatal diagnosis of congenital lung diseases in children was considered. The opinions of a number of authors on the timing and tactics of surgical intervention, as well as the advantages of minimally invasive surgery for congenital lung developmental anomalies, are presented.

Keywords: *cysto-adenomatous lung malformation; children.*

For citation: Suleymanova S.B. Modern views on etiology *and pathogenesis of cystic-adenomatous pulmonary malformation in children. Part I.* Detskaya Khirurgya (Pediatric Surgery, Russian journal) 2019; 23(2): 78-85. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85

For correspondence: *Saule B. Suleymanova*, MD, Ph.D., Assistant of the Department of Pediatric Surgery, Astana Medical University, Nur-Sultan, 010000, Kazakhstan. E-mail: saule_suleiman@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received September 26, 2018
Accepted March 25, 2019

Врожденные пороки и аномалии развития бронхолегочной системы у детей в настоящее время представляют собой один из самых сложных разделов детской хирургии. Большой диспут у практических врачей вызывают заболевания с респираторными нарушениями, в основе которых лежат врожденные патологии легких у плода, во многом определяющие показатель младенческой смертности: антенатальная гибель плодов с врожденными пороками легких составляет 6,6%, смертность у новорожденных при врожденных аномалиях легких – 13,3% (Кохно Н.И., 2005) [1, 2].

Довольно часто врожденный порок развития служит основой формирования рецидивирующих и хронических заболеваний легких, ухудшающий качество жизни ребенка и приводящий к инвалидизации (Исаев Д.С., 1998; Зелинская Д.И., 2000).

Согласно имеющимся в литературе сведениям, пороки развития диагностируют у 10% детей с хроническими бронхолегочными заболеваниями (Розинова Н.Н., Кагановв С.Ю., 1986). Нельзя исключить что эти показания несколько занижены, ибо они касаются клинически диагностированных пороков. Так называемые тканевые дисплазии – врожденные дефекты строения слизистой оболочки трахеобронхиального дерева, хрящевой и мышечной основы бронхов – могут оставаться не выявленными. По этой причине, вероятно, данные клиницистов и морфологов о частоте пороков значительно различаются [3, 4].

Представление о пороках развития легких неразрывно связано с пониманием основных закономерностей формирования бронхолегочной системы. В 1979 г. в обзоре B.Landing были обобщены пороки развития всего респираторного тракта, начиная с гортани, в том числе аномалии легочных сосудов, дефекты диафрагмы и передней стенки грудной клетки.

Многообразие пороков развития нашло свое отражение в многочисленных классификациях (Колесов В.И., 1960; Феофилов Г.Л., Амиров Ф.Ф., 1969; Путов Н.В., Федосеев Г.Б., 1984). Классификация, предложенная А.М. Сазоновым, В.Г. Цуманом и Г.А. Романовым (1981), учитывает степень нарушений развития легкого, характер и количество легочных структур, формирующих аномалии. В этой классификации выделяют:

1) аномалии, обусловленные комбинированным нарушением развития нескольких структур легкого;

* Продолжение в № 3 2019 г.

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Review

2) аномалии, обусловленные преимущественным нарушением развития бронхо-эпителиального ветвления;

3) аномалии, обусловленные нарушением развития сосудов.

Несомненный клинический интерес представляет классификация, предложенная F. Szekely и E. Farkas (1978), в которой различные пороки развития объединены в зависимости от характера патологических изменений в легких. Так, в общей группе представлены пороки, характеризующиеся расширением бронхов (синдром Муньe-Куна, синдром Картагенера, семейные бронхоэктазы). Наряду с этим, выделены пороки, сопровождающиеся бронхиальным стенозом. Такие пороки, как врожденная лобарная эмфизема и синдром Вильямса–Кэмпбелла объединены общим признаком – нарушением тонуса бронхиальной стенки. В этой классификации также детально рассмотрены многочисленные аномалии бронхиальных ветвлений.

В национальной рабочей классификации основных клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, установленной Российским респираторным обществом (2008), выделены пороки, связанные с недоразвитием бронхолегочных структур (агенезия, аплазия, гипоплазия легких). Отдельно представлены пороки развития стенки трахеи и бронхов. При этом пороки подразделяются на распространенные (трахеобронхомегалия и трахеобронхомаляция, бронхиолоэктатическая эмфизема и синдром Вильямса–Кэмпбелла) и ограниченные (врожденные стенозы трахеи, врожденная лобарная эмфизема, дивертикулы трахеи и бронхов) [5].

Развитие современной клинической медицины существенно расширило возможности диагностики врожденных и наследственных бронхолегочных заболеваний, распознать которые бывает очень непросто. Вместе с тем, определение истинного характера патологического процесса обеспечивает успех терапевтических мероприятий. Как подчеркивал Н.П. Бочков и др. (1984), рецидивирующие и хронические заболевания, длительно не поддающиеся лечению, особенно у детей, часто имеют генетическую природу. По данным Н.Н. Розиновой, Ю.Л. Мизерницкого (2011) среди детей с хроническими воспалительными заболеваниями легких наследственная патология была диагностирована у 5–6% больных. При этом различают собственно наследственные болезни легких и бронхолегочные поражения, с той или иной частотой сопровождающие наследственную патологию. Число легочных заболеваний с аутосомно-доминантным типом наследования относительно невелико. К ним относятся: первичная легочная гипертензия, спонтанный семейный пневмоторакс, идиопатический диффузный фиброз легкого, синдром Хаммена-Рича. Для аутосомно-рецессивного типа наследования характерны заболевания: синдром Картагенера и первичная цилиарная дискинезия, легочный альвеолярный микролитиаз, легочный альвеолярный протеиназ

Как уже отмечалось ранее, поражение легких бывает одним из проявлений других наследственных болезней. Так, в основе формирования хронических воспалительных заболеваний легких нередко лежат пороки развития. Некоторые из пороков рассматриваются как наследственная патология: лобарная эмфизема с аутосомно-доминантным типом наследования. Трахеобронхомегалия, легочная гипоплазия и кистозная болезнь легких (поликистоз легких) с аутосомно-рецессивным типом [4].

Наиболее полно наследственные болезни, в том числе бронхолегочной системы, представлены в электронной базе данных «Менделевское наследование у человека» (Mendelian Inheritance in man, 1998).

Патогенез пороков развития (тератогенез) остается спорным. Предложено множество теорий патогенеза: теория сосудистой тракции, сосудистой недостаточности, сосудистого недоразвития, теория добавочной почки, дисрегуляции легочного созревания, и более новых – теории молекулярных маркеров и сигнальных белков. Описано влияние экспрессии фактора роста фибробластов-10 на рост и развитие легочной ткани в псевдогландулярный и каналикулярный период с формированием кисто-аденоматозной мальформации легких у мышей, что, несомненно, принесло существенный вклад в понимание патогенеза данного порока, но требует дальнейших исследований [6]. В литературе описаны случаи семейного наследования кистозных ВПРЛ. Так, A.Feng и соавт. (2012) представили клинический случай позднего выявления кистозной мальформации легких у женщины 28 лет с обнаруженными на компьютерной томографии (КТ) мультикистозными образованиями от 0,5 до 3 см в диаметре, локализованными в нижних долях обоих легких, которые впоследствии подтвердились при гистологическом исследовании. В ходе изучения генеалогического анамнеза данной женщины стало известно, что у матери также были обнаружены кисты в обоих легких на КТ, при этом обе женщины длительное время не замечали каких- либо симптомов. Хотя результаты кариотипного анализа в случаях семейных форм не выявили наследственных мутаций, тем не менее хромосомная или генетическая дисфункция не была полностью исключена [7].

Предполагается, что в основе возникновения тяжелых множественных врожденных пороков могут быть структурные хромосомные перестройки, затрагивающие единичный ген или группу генов, играющих ключевую роль в эмбриогенезе и функционировании сразу нескольких тканей и систем. В результате нарушения миграции могут развиться гетеротопии, агенезии и ряд сложных пороков с морфологической и функциональной незрелостью. В этой связи, определение спектра генных/хромосомных аберраций при врожденных пороках требует комплексного использования современных подходов молекулярно-генетического и цитогенетического анализа высокого разрешения с помощью современных полногеномных и таргетных методов, в том числе сравнительной геномной гибридизации на ДНК-микрочипах (CGH-array), флуоресцентной гибридизации (FISH) и полноэкзомного секвенирования нового поколения, с целью изучения спектра генных/хромосомных аберраций в группе детей с множественными пороками, а также с редкими изолированными дефектами, открывая перспективу лучшему пониманию молекулярно-клеточных механизмов их формирования [8–10].

Эволюция молекулярно-генетических и цитогенетических исследований

Исследования цитогенетики человека начались в 1879 г. с наблюдений немецкого патологоанатома Арнольда, который исследовал клетки карциномы и саркомы, поскольку объемные ядра этих клеток облегчали анализ. Позднее Флемминг и Ганземан первыми исследовали митотические хромосомы человека. В конце XIX века Вальдейер (1888) предложил слово «хромосома», что означает «цветное тело» (от греческих хрома – цвет и сома – тело). Использование колхицина для хромосомных препаратов было впервые реализовано в растительной цитогенетике в 1930-х годах (Blakeslee and Avery, 1937, Levan, 1938). Это вещество действовало как яд, который препятствует образованию веретена во время митоза, увеличивая количество метафазных спредов, доступных для анализа в препарате. Обработка клеток гипотоническим раствором способствовала распространению хромосом, облегчая их

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Обзор

определение и подсчет. Предыдущие исследования показали, что распространенные и запутанные хромосомы затрудняют подсчет количества хромосом млекопитающих в препарате (Маттей, 1949). В последующем метод был усовершенствован применением гипотонической терапии (гипотонический шок) для исследования фибробластов легких у эмбрионов человека, тем самым установив правильное модальное число 46 хромосом в диплоидных клетках человека (Tjio and Levan, 1956). За несколько десятилетий до этого открытия в ряде сообщений было описано число хромосом человека – 48, основанное на исследовании хромосомных препаратов сперматогонии человека (Painter, 1923) [11]. В эту эпоху были известны лишь несколько хромосомных деталей, сами хромосомы могли быть расположены в разных группах в зависимости от их размеров и положения центромера. После определения правильного количества модальной хромосомы была идентифицирована первая наследственная хромосомная аномалия (анеуплоидии), приводящая к заболеваниям человека. Lejeune et al. (1959) сообщили о трисомии 21 у пациентов с синдромом Дауна. Впоследствии были выявлены хромосомные аномалии, вызывающие синдромы Klinefelter (47, XXY) и Turner (45, X) (Ford et al., 1959; Jacobs and Strong, 1959) [12]. В тот же период первая приобретенная хромосомная аномалия (филадельфийская хромосома) была описана у пациентов с хронической миелоидной лейкемией (Nowell, 1960) [13]. Последующий технический прогресс в цитогенетике включал использование фитогемагглютинина (вещество, которое стимулирует деление Т-лимфоцитов *in vitro*) и введение методов бандинга в конце 1960-х годов. Метод бандинга основан на использовании химической обработки для получения дифференцированных окрашенных областей на хромосомах. Характеристика полосы очень характерна для каждой хромосомы и облегчает полную идентификацию кариотипа человека.

Идентификация хромосом. С возможностью более конкретной идентификации и детального анализа хромосом человека началась новая фаза цитогенетики. Первым методом визуализации картины полос на человеческих хромосомах был Q-banding (Caspersson et al., 1968). Впоследствии был разработан G-banding (Seabright 1971), метод, основанный на применении трипсина (протеолитического фермента) с использованием окрашивания Гимза, этот метод по-прежнему является наиболее распространенным цитогенетическим методом, обычно используемым в клинических условиях [14].

Классическая цитогенетика стала традиционным мощным диагностическим инструментом для обнаружения геномных аберраций, включая как прирост, так и потери сегментов генома и перегруппировок внутри хромосом и между ними. Тем не менее, разрешение стандартных методов цитогенетики оставалось ограниченным, причем на гаплоидный геном приходилось примерно 400–500 полос. Описанные выше подходы способствовали идентификации структурных хромосомных аберраций размером не менее 5–10 МБ. Среднее разрешение зависит от разных элементов, таких как оптические характеристики микроскопа, сложного способа упаковки ДНК в хромосомы и качества метафазных препаратов. Разрешение стандартного кариотипа улучшилось после введения полосы с высоким разрешением на основе использования синхронных лимфоцитов (Yunis, 1976). Используя этот метод, можно было увеличить количество клеток в стадиях прометафазы или профазы. Подробные принципы, Протоколы и потенциальные приложения для этих методов цитогенетического бандажа были обобщены в другом месте (Wegner, 1999).

Флуоресценция in situ Hybridization (FISH). Значительный разрыв между ограниченным разрешением для наблюдения за хромосомной структурой с помощью методов полос (> 5 Мб, в зависимости от применяемой разрешающей способности) при световой микроскопии и уровнях генов был перекрыт после введения и применения нескольких молекулярно-цитогенетических подходов. Первыми применениями молекулярных методов для препаратов хромосомного слайда, называемых гибридизацией *in situ* (ISH), были попытки идентифицировать и локализовать специфические последовательности нуклеиновой кислоты внутри клеток или на хромосомах (Gall and Pardue, 1969; John et al., 1969) [15]. Гибридизацию визуализировали с использованием авторадиографии, которая была применена к хромосомам человека с начала 1960-х годов (German and Bearn, 1961). Использование технологии ISH обеспечило еще одно измерение для изучения хромосом, облегчая визуализацию ДНК или комплементарных последовательностей РНК на хромосомах и в клетках на молекулярном уровне. Однако применение этого метода было ограничено из-за использования радиоактивных изотопов, сильно повторяющихся последовательностей ДНК и соответствующей РНК в сателлитных областях хромосом и центромеров (Pardue and Gall, 1970). В последующем Langer и соавт. (1981) [16] улучшил ISH разработкой методики, включающей использование нерадиоактивного зонда (такого, как биотин) для косвенной маркировки.

Гибридизацию (ДНК-зонд и последовательность мишеней) можно визуализировать с помощью флуоресцентной маркировки авидином или стрептавидином. Развитие флуоресцентных молекул привело к прямому (в сочетании с флуорохромом) или непрямому (через промежуточную молекулу, включенную в зонд) связыванию с ДНК-основаниями, что в конечном итоге превратилось в гибридизацию флуоресценции *in situ* (FISH).

FISH увеличила разрешение, при котором хромосомные перегруппировки можно было идентифицировать на субмикроскопических уровнях, делая этот метод применимым как для клинического диагноза, так и для исследования. FISH стала движущей силой дальнейшего развития цитогенетических методов. Основной принцип FISH заключается в том, что целевая ДНК в клетках, ядрах или метафазных хромосомах фиксируется и денатурируется на поверхности слайда. ДНК-зонд должен быть помечен нуклеотидом, который либо конъюгирован с флуоресцеином (прямая маркировка) и/или нефлуоресцентным гаптеном (косвенная маркировка), и зонд сначала денатурируется и предварительно гибридизуется с немеченой повторяющейся ДНК. Перед гибридизацией метафазную хромосомную суспензию и / или межфазные ядра ферментативно обрабатывают, чтобы повысить доступность зонда и уменьшить количество цитоплазмы. Предварительно обработанный слайд, содержащий ДНК-мишень и зонд, нагревают до денатурации ДНК. Полученный зонд затем наносят на слайд в течение 16–48 ч при 37 °C для гибридизации. Скорость гибридизации между зондом и ДНК-мишенью изменяется в зависимости от используемого зонда. После промывки удаляют несвязанные одноцепочечные ДНК и неспецифически связанную ДНК со слайда. Когда используется нефлуоресцентный гаптен (например, биотин или дигоксигенин), обнаружение происходит через связанный с флуоресценцией антигаптен. На слайд наносят антиувядающий раствор, содержащий DAPI (4‘, 6-диамидино-2-фенилиндол), и переносят на покровное стекло. DAPI – флуоресцентное пятно, широко используемое в флуоресцентной микроскопии. Сигналы FISH обычно наблюдаются с использованием эпифлу-

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Review

оресцентных микроскопов со специфическими фильтрами для идентификации флуорохромов (Marcus, 1988; Reichman, 2000), камера с зарядовой связью (CCD) захватывает изображение, а затем количественно определяет флуоресцентные сигналы (Hiraokaetal, 1987). Полученные изображения могут быть проанализированы с использованием систем [17].

Совместно с разработкой стандартного FISH (Pinkel и соавт., 1986) были разработаны более чувствительные методы на основе FISH, а также были введены несколько цифровых систем визуализации для получения изображений FISH, предварительной обработки изображений и их цифрового анализа. FISH предоставляет возможность одновременного использования одного или нескольких зондов ДНК, и эти зонды можно отличить после маркировки разными цветами или цветовыми комбинациями. Зонды в первую очередь определяют разрешение этих молекулярно-цитогенетических методов и могут быть классифицированы по образцу обнаруженных последовательностей ДНК [18].

В настоящее время для обнаружения определенных конституционных и приобретенных хромосомных аномалий доступен ряд коммерческих зондов (например, цельнохромосомные зонды для окраски, зонды для окраски хромосом и повторяющиеся центромерные, субтеломерные и локус-специфические зонды). FISH-зонды могут быть получены путем сортировки хромосомного потока (Pinkel и соавт., 1988) или микродиссекции (Meltzeretal, 1992) с использованием универсальной дегенеративной олигонуклеотидной ПЦР (DOP-PCR) [19].

FISH – гибкий метод, который привел к дальнейшему развитию других цитогенетических методов. Существует несколько подходов с использованием методов на основе FISH для разных приложений, например, reverse-FISH (Carter и соавт., 1992), fib-FISH (Florijn и соавт., 1995; Heiskanen et al., 1995), M-FISH (multicolor FISH) (Speicher и соавт., 1996), SKY (спектральный кариотипический FISH) (Schröck и соавт., 1996), flow-FISH (Rufer и соавт., 1998), Q-FISH (количественный FISH) (Martens и соавт., 1998), COBRA-FISH (комбинированное бинарное соотношение, маркирующее FISH) (Tanke и соавт., 1999), cenM-FISH (центромер-специфический M-FISH) (Nietzel и соавт., 2001), pod-FISH (родительское происхождение FISH) (Weise и соавт. 2008), heterochromatin-M-FISH(Bucksch и соавт., 2012) и другие модифицированные подходы FISH. При модификации несколько методов FISH также могут быть применены к межфазным клеткам (интерфазный FISH) (Vorsanova и соавт., 2010), что дает преимущества FISH для визуализации ДНК-зондов в межфазных ядрах (Cremer и соавт., 1986). Однако ограничение стандартной FISH заключается в том, что невозможно одновременно обнаружить все хромосомы во всем геноме.

Сравнительная геномная гибридизация (CGH) и CGH-array. Метод сравнительной геномной гибридизации (CGH) представляет собой эффективный подход к скринингу генома для изменения количества хромосомных копий (коэффициенты усиления / дублирования и потери / удаления) в течение одного эксперимента, этот метод был первоначально введен для изучения хромосомных аномалий, которые происходят в твердом теле опухолей и других злокачественных новообразований (Kallioniemi и соавт., 1992). Хромосомная CGH основана на количественном двухцветном FISH и преодолевает проблемы разрушения тканевой культуры и артефактов, потому что этот метод основан на использовании опухолевой ДНК, экстрагированной непосредственно из свежей или архивной опухолевой ткани [20]. Основным преимуществом CGH над стандартными методами FISH является то, что для анализа требуется только ДНК из опухолевых клеток, избегая трудностей получения метафазных хромосом с хорошей морфологией и разрешением для анализа. В CGH общая геномная ДНК, полученная из контрольных клеток и тестовых образцов, дифференциально маркируется с использованием зеленого (флуоресцеин изотиоцианата, FITC) и красных флуоресцентных красных (Техасских) флуоресцентных красителей, денатурированных в присутствии блокирующей ДНК для подавления повторяющихся последовательностей, а затем ко-гибридизованный с нормальными метафазными хромосомами. Из-за одновременной гибридизации с нормальным денатурированным метафазным распространением хромосом существует конкуренция за гибридизацию ДНК с гомологичными сайтами. После гибридизации и промывки метафазные спреды наблюдаются под флуоресцентным микроскопом, и анализ изображения выполняется с использованием программного обеспечения для анализа изображений. Полученные интенсивности флуоресценции тестовой и эталонной гибридизаций измеряются цифрой по длине каждой хромосомы. Хромосомные области, одинаково представленные как в тестовых, так и контрольных образцах, выглядят желтыми из-за наличия одинакового количества красного и зеленого красителя, тогда как области с потерями номера копии являются красными и имеют отношение ниже единицы.

Хотя хромосомная CGH увеличила потенциал для выявления новых хромосомных аномалий, этот метод занимает много времени и незначительно улучшает разрешение (> 3 Мб) по сравнению с обычным анализом хромосом G-banding. Одна из последних разработок, основана на массивах CGH (CGH-array), включает замещение метафазных хромосом последовательностями ДНК, прикрепленными к стеклянным слайдам, увеличил разрешение для обнаружения изменений количества копий в геноме человека, что привело к более подробной информации о геномных прибылях и убытках.

Среди всех последних достижений в области методов исследования хромосом была предложена технология CGH-array как метод, который постепенно заменит классическую цитогенетику при клиническом диагнозе. Фундаментальный принцип CGH-array по существу тот же, что и в CGH. Действительно, этот процесс включает сравнительную геномную гибридизацию с использованием матрицы, а не метафазного распространения в качестве субстрата (Solinas-Toldo и соавт., 1997; Pinkeletal, 1998) [18, 21]. Фактический микрочип включает в себя тысячи пятен опорных последовательностей ДНК, нанесенных точно на сетку на слайде. Начальные сегменты ДНК могут быть более крупными (~ 150 кб) человеческими ДНК-сегментами, вставленными в бактериальную искусственную хромосому (BAC-клоны) или искусственными хромосомами, вызванными бактериальными / P1клонами (PAC) (Snijders и соавт., 2001; Fiegler и соавт., 2003; Chung и соавт., 2004; Ishkanian и соавт., 2004) [22–24]. По мере улучшения разрешения массива в качестве мишеней использовались более короткие последовательности, в том числе более мелкие фрагменты к ДНК (Pollack и соавт., 1999), продукты ПЦР (Mantripragada и соавт., 2004) и олигонуклеотиды (Rouillard и соавт., 2002) [25–26]. Кроме того, CGH-array обеспечивает разрешение на уровне нуклеотидов. Массивы с одним нуклеотидным полиморфизмом (массивы SNP) имеют самое высокое разрешение (5–10 kb) всех доступных платформ (Le Scouarnec и Gribble, 2012). Совместная гибридизация тестовой и эталонной ДНК не требуется, поскольку тестовая ДНК может непосредственно гибридизоваться с массивом SNP [27].

В дополнение к CNV информация о генотипе, полученная из SNP-массивов, позволяет обнаруживать участки

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Обзор

гомозиготности и таким образом идентифицировать гены рецессивной болезни, мозаичную анеуплоидию или одностороннюю диссомию (UPD) (de Leeuw и соавт., 2012). В то время, как только массивы SNP позволяют обнаруживать нейтральные по количеству копий регионы в отсутствие гетерозиготности (AOH), эти массивы имеют ограниченную способность обнаруживать CNV с единственной экзоной из-за распределения SNP через геном. Объединение генотипирования с использованием массива-CGH и SNP на одной платформе оптимизирует возможности клинической диагностики, предлагая одновременное обнаружение нейтрального количества копий и небольших изменений внутригрудной копии (Wiszniewska и соавт., 2014) [28].

Число, размер и распределение сегментов ДНК на стеклянном слайде определяют разрешение матрицы, но обычно, чем больше число фрагментов ДНК, тем выше разрешение. Согласно Balliff и соавт. (2006) и Cheung и соавт. (2007), массив-CGH также повысил чувствительность к обнаружению клеточных линий с хромосомными аномалиями в периферической крови, поскольку хромосомные аномалии обычно обнаруживаются только в 5–7% клеток. В настоящее время существует несколько различных коммерчески доступных диагностических платформ для микрочипов ДНК, сравнивающих тысячи последовательностей ДНК от образца пациента с контрольными образцами ДНК или контрольными наборами данных для обнаружения хромосомных CNV. Общим ограничением массивов SNP и CGH является невозможность идентифицировать сбалансированные транслокации и инверсии.

Одно из последних достижений – разработка модифицированного Протокола массивов, называемый транслокацией CGH (tCGH), для решения рекуррентных точек прерывания транслокации при гематологических новообразованиях. До этапа гибридизации в процедуре массива линейная ПЦР-амплификация проводится по известным рекуррентным точкам прерывания транслокации при гематологических новообразованиях. Таким образом, возможно обнаружение изменений числа копий и известных рекуррентных транслокаций вблизи или на контрольных точках (Greisman и соавт., 2011) [29].

Применение FISH в пред- и послеродовой диагностике и исследованиях

Несколько десятилетий назад молекулярные методы были введены в цитогенетические исследования, что способствовало разработке новых приложений, многие из которых использовались диагностически или в качестве прогностических инструментов в медицине. Кроме того, молекулярные цитогенетические подходы также стали незаменимыми для целого ряда исследовательских целей. Использование молекулярных методов в цитогенетических исследованиях возрастает, и многие вариации, адаптации и спецификации затрудняют охват всех возможных применений. С момента введения FISH в конце 1980-х годов наблюдалось огромное увеличение числа исследований с использованием молекулярных подходов в цитогенетике для выявления хромосомных аномалий и оценки CNV в геноме человека. FISH предлагает множество возможностей для изучения всего генома или специфических геномных локусов (регионов), и этот метод широко используется для выявления анеуплоидий и рецидивирующих хромосомных аномалий при предимплантации генетических, пренатальных и постнатальных диагнозов и цитогенетики рака. Более того, применение FISH давно доказано как чрезвычайно ценное для изучения хромосомной и геномной организации, эволюции и вариаций в отношении здоровья и болезней (Geurts и de Jong 2013) [30].

Существенным преимуществом FISH является то, что он может применяться в неделящихся клетках, тем самым облегчая непосредственное исследование хромосом в цитологических препаратах и срезах тканей. Классический цитогенетический анализ зависит от клеток, подвергающихся митозу, для получения метафазных хромосомных спредов. Поэтому клетки должны культивироваться *in vitro* либо в виде короткой, либо в долгосрочной перспективе. Таким образом, интерфаза FISH на некультурных амнионных клетках стала полезным методом для быстрой и ранней диагностики наиболее распространенных хромосомных расстройств (трисомы 21, 13, 18 и половых хромосомных анеуплоидий) у эмбриональных клеток (Eiben и соавт., 1998). Для скрининга пренатальной анеуплоидии с использованием некультурированных амниоцитов не требуется длительная клеточная культура, и результаты могут быть получены в течение 24–48 ч. Наиболее распространены три спутниковые центромерные зонды для хромосом X, Y и 18 и два локус-специфических зонда для областей 13q14 и 21q22.13. Interphase FISH в пренатальной диагностике – это быстрый, точный, чувствительный и относительно специфический метод выявления анеуплоидий в образцах некультурных хорионических ворсинок (Rosner и соавт., 2013) и амниотических жидкостных клеток (Stumm и соавт., 2006) [31].

Используя сайт-специфические ДНК-зонды (YAC, BAC, PAC и космиды), FISH обычно применяется для отображения хромосомных областей с расположенными точками (Liehr, 2009) [32]. Кроме того, с использованием локус-специфических зондов, FISH также использовался для подтверждения клинических диагнозов известных микроделеций и синдромов микродупликации (Riegel and Coorkers). Однако FISH имеет ограничения в обнаружении известных синдромов микроделеции. Иногда пациенты с небольшими и необычными удалениями могут избежать обнаружения, в зависимости от специфичности флуоресцентного зонда. Кроме того, случаи с генными или импринтирующими мутациями, возникающие в некоторых синдромах микроделеции, например, синдром Ангельмана (AS), синдром Прадера–Вилли (PWS), синдром Сотоса (SoS), синдром Миллера–Диккера(MDS), синдром Смита–Магениса (SMS) и синдром Рубинштейна–Тайби (RTS), не могут быть обнаружены через FISH. Анализ теломер с использованием методов FISH был проведен в исследованиях рака и старения (биология теломер); однако из-за отсутствия специфичности ДНК-зондов (мотивы повторной последовательности TTAGGG) этот метод плохо применим для диагностики (Aubert и Lansdorp, 2008) [33]. Многоцветные подходы к FISH были наиболее ценными для цитогенетики рака, но эти методы также применялись для диагностики конституциональных хромосомных аномалий (Liehr и соавт., 2004) и определения транслокаций и маркерных хромосом в сложных кариотипах (Kearney, 2006).

Применение анализа CGH. Хотя CGH в основном применяли для исследования твердых опухолей, этот метод также использовался для изучения лейкемии и лимфомы (Kallioniemi и соавт., 1992; Forozan и соавт., 1997; Gebhart, 2004; Carless, 2009) [34-36]. Однако, учитывая, что CNVs связаны со многими условиями, от рака до аномалий развития, CGH также применялся для выявления конституциональных хромосомных аномалий в клинических образцах (Daniely и соавт., 1998; Lestou и соавт., 1999; Kirchhoff и соавт., 2001; Ness и соавт., 2002; Schou и соавт., 2009) [37–39].

В нескольких отчетах показано использование стандартных CGH или CGH-array для выявления хромосомных аномалий в отдельных клетках предимплантацион-

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Review

ных эмбрионов (WellsandDelhanty, 2000; LeCaignecetal, 2006; Hartonetal, 2013).

Первоначально Array-CGH применяли для выявления хромосомных дисбалансов путем обнаружения CNV в опухолях для выявления генов-кандидатов, участвующих в патогенезе рака (Albertson и Pinkel, 2003) [40]. В клинической диагностике как олигонуклеотидная матрица-CGH, так и SNP-генотипирование были продемонстрированы как мощные геномные технологии для оценки идиопатической умственной отсталости (MR) (также называемой задержкой развития (DD), умственной недееспособностью (ID) или трудностью обучения), ассоциированной врожденной аномалии (MCA), расстройства аутистического спектра (ASD), шизофрении и других нейропсихических расстройств. Кроме того, введение геномных массивов облегчило обнаружение хромосомных аномалий, соответствующих генетическим синдромам в более раннем возрасте, когда может присутствовать лишь несколько клинических данных.

CNV – это сегменты ДНК, представляющие переменное количество копий по сравнению с эталонным геномом, который имеет типичное число копий $n = 2$ (Feuk и соавт., 2006) [41]. В 2004 г. два исследования, в которых использовались платформы на основе массивов, показали, что CNV существуют во многих крупных геномных сегментах ДНК между нормальными человеческими индивидуумами, предполагая, что эти вариации довольно распространены и могут представлять собой полиморфные вариации и значительный источник генетических изменений (Iafrate и соавт. 2004). Кроме того, исследование геномного содержимого CNV показало, что эти геномные области включают в себя множество функциональных генов, участвующих в регуляции роста и метаболизма клеток, подразумевая CNV в человеческих чертах, болезни и эволюции [42].

С тех пор многие дополнительные исследования, использующие множество различных платформ для анализа генома высокого разрешения, продвинули знания в отношении CNV. Так, Vissers и соавт. (2003) опубликовали первый отчет об обнаружении конституционных субмикроскопических дисбалансов с использованием методов на основе массивов у ряда пациентов с ID / MCA, также были опубликованы результаты многих других исследований на основе массивов. Показано, что исследования генома на основе массивов обнаруживают патогенные дисбалансы примерно в 14–18% последовательных случаев ID / MCA, предназначенных для анализа. Различия в ставках могут отражать различия в разрешениях используемых платформ массива, критерии отбора пациентов и интерпретацию клинической значимости обнаруженных CNV. Большинство из этих CNV – делеции и дублирования, которые возникают в de novo, либо как уникальные, либо как повторяющиеся события [43].

Подходы к микрочипам все чаще используются в пренатальных условиях при беременности с ультразвуковыми аномалиями. Опубликованы многочисленные серии случаев и отчеты о случаях применения CGH-array (Brady and Vermeesch, 2012; Evangelidouetal, 2013). Array-CGH увеличивает диагностический выход для обнаружения дополнительных геномных дисбалансов на 1–5% по сравнению с нормальным кариотипированием, в зависимости от исходного источника [44–46]. Текущие исследования показали, что полезность массива CGH при пренатальной диагностике зависит от выбора подходящей платформы. Ещё более важно, что массив CGH является ценным инструментом пренатальной диагностики как в случаях с пороками развития плода, так и с нормальным кариотипом, а также в случаях, когда аномалия была обнаружена другим методом и дополнительно исследована с помощью массива CGH. Массив CGH предоставил ценную информацию для корреляции фенотипа-генотипа и предоставил более точную информацию о клинической значимости и риске в текущей и будущей беременности пациентки, полезной для репродуктивного планирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Продолжение в следующем номере.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кохно Н.И. *Врожденный заболевания легких плода (течение беременности, диагностика и исходы)*. Автореф. дисс. …канд. мед. наук. М.: 2005, 196с.
2. Laekoo K., Mngongo C.,AmehE.A., BrickierS.W.*Congenital cystic lung lesion. Paediatric surgery*. Seattle, WA, USA: GLOBAL HELP Organization. 2011: 287-91.
3. Каганов С.Ю., Розинова Н.Н. Место врожденных и наследственных патологий в пульмонологии детского возраста. *Врожденные и наследственные заболевания легких у детей*. М.: Медицина, 1986, с. 14-19.
4. Розинова Н.Н., Мизерницкий Ю.Л. *Хронические заболевания легких у детей.* М.: Практика, 2011. 224 с.
5. *Классификация клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей.* М.: Российское респираторное общество, 2009.
6. Gonzaga S. Cystic adenomatoid malformation are induced by localized FGF10 overexpression in fetal rat lung. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2008; 39(3): 346-55.
7. Feng A., Cai H., Zhang Q. Y.Congenital cystic adenomatoid malformation of lung in adults: 2 rare cases report and review of the literature. *Diagnostic Pathology*. 2012; 7: 3.
8. Jonathan L.A. Callaway, Lisa G. Shaffer, Lyn S. Chitty, Jill A. Rosenfeld, John A. Crolla. *The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature.* Prenatal diagnosis, 2012/
9. Ronald J., Christa Lese Martin, Brynn Levy. Chromosomal Microarray versus karyotyping for Prenatal Diagnosis. *The New England Journal of Medicine*.2012.
10. Sarah T. South, Charles Lee. Ahen N. Lamb, Anne W.ACMG standards and guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. Genetic in Medicine. *Official J. of the American Col. of Med. Genetics and Genom,* 2013.
11. Arnason U. 50 years after–examination of some circumstances around the establishment of the correct chromosome number of man. *Hereditas.* 2006; 143: 202-11.
12. Jacobs Pa, Strong J.A. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature*. 1959; 31: 183 (4657): 302-3.
13. Nowell P.C., Croce C.M. Chromosomal approaches to the molecular basis of neoplasia. *Symp Fundam Cancer Res*. 1986; 39: 17-29.
14. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 1971; 30: 2 (7731): 971-2.
15. Pardue M.L., Gall J.G. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1969; 64 (2): 600-4.
16. Langer P.R., Waldrop A.A., Ward DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981; 78 (11): 6633-7.
17. Hiraoka Y., Sedat J.W., Agard D.A. The use of a charge-coupled device for quantitative optical microscopy of biological structures. *Science*. 1987; 2: 238 (4823): 36-41.
18. Pinkel D., Straume T., Gray J.W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83 (9): 2934-8.
19. Telenius H., Carter N.P., Bebb C.E., Nordenskjöld M., Ponder B.A., Tunnacliffe A. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics*. 1992; 13 (3): 718-25.
20. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F., Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992; 30: 258 (5083): 818-21.

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Обзор

21. Solinas-Toldo S., Lampel S., Stilgenbauer S., Nickolenko J., Benner A., Dohner H., Cremer T., Lichter P. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997; 20 (4): 399-407.
22. Snijders A.M., Nowak N., Segraves R., Blackwood S., Brown N., Conroy J., Hamilton G., Hindle A.K., Huey B., Kimura K., Law S., Myambo K., Palmer J., Ylstra B., Yue J.P., Gray J.W., Jain A.N., Pinkel D., Albertson D.G. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat Genet*. 2001; 29 (3): 263-4.
23. Fiegler H., Gribble S.M., Burford D.C., Carr P., Prigmore E., Porter K.M., Clegg S., Crolla J.A., Dennis N.R., Jacobs P., Carter N.P. Array painting: a method for the rapid analysis of aberrant chromosomes using DNA microarrays. *J Med Genet.* 2003; 40 (9): 664-70.
24. Ishkanian A.S., Malloff C.A., Watson S.K., DeLeeuw R.J., Chi B., Coe B.P., Snijders A., Albertson D.G., Pinkel D., Marra M.A., Ling V., MacAulay C., Lam W.L. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nat Genet*. 2004; 36 (3):299-303.
25. Mantripragada K.K., Buckley P.G., de Ståhl T.D., Dumanski J.P. Genomic microarrays in the spotlight. *Drug Discov Today*. 2004; 15: 9 (24): 45-52.
26. Rouillard J.M., Herbert C.J., Zuker M. Oligo Array: genome-scale oligonucleotide design for microarrays. *Bioinformatics*. 2002; 18 (3): 486-7.
27. Le Scouarnec S., Gribble S.M. Characterising chromosome rearrangements: recent technical advances in molecular cytogenetics. *Heredity.* 2012; 108 (1): 75-85.
28. Wiszniewska J., Bi W., Shaw C., Stankiewicz P., Kang S.H., Pursley A.N.., Lalani S, Hixson P., Gambin T., Tsai C.H., Bock H.G., Descartes M., Probst F.J., Scaglia F., Beaudet A.L., Lupski J.R., Eng C., Cheung S.W., Bacino C., Patel A. Combined array CGH plus SNP genome analyses in a single assay for optimized clinical testing. *Eur J Hum Genet*. 2014; 22 (1): 79-87.
29. Greisman H.A., Hoffman N.G., Yi H.S. Rapid high-resolution mapping of balanced chromosomal rearrangements on tiling CGH arrays. *J Mol Diagn*. 2011; 13 (6): 621-33.
30. Geurts R., de Jong H. Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) on pachytene chromosomes as a tool for genome characterization. *Methods Mol Biol*. 2013; 1069: 15-24.
31. Stumm M., Wegner R.D., Bloechle M., Eckel H. Interphase M-FISH applications using commercial probes in prenatal and PGD diagnostics. C*ytogenet Genome Res.* 2006; 114 (3-4): 296-301.
32. Liehr T., Ewers E., Kosyakova N., Klaschka V., Rietz F., Wagner R., Weise A. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn*. 2009; 9 (4): 317-24.
33. Aubert G., Lansdorp P.M. Telomeres and aging. *Physiol Rev*. 2008; 88 (2): 557-79.
34. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F., Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992; 30: 258 (5083): 818-21.
35. Gebhart E. Comparative genomic hybridization (CGH): ten years of substantial progress in human solid tumor molecular cytogenetics. *Cytogenet Genome Res*. 2004; 104 (1-4): 352-8.
36. Carless M. Analysis of genomic aberrations using comparative genomic hybridization of metaphase chromosomes. *Methods Mol Biol.* 2009; 523: 177-202.
37. Lestou V.S., Lomax B.L., Barrett I.J., Kalousek D.K. Screening of human placentas for chromosomal mosaicism using comparative genomic hybridization. *Teratology*. 1999; 59 (5): 325-30.
38. Kirchhoff M., Rose H., Lundsteen C. High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics. *J Med Genet*. 2001; 38 (11): 740-4.
39. Schou K.V., Kirchhoff M., Nygaard U., Jorgensen C., Sundberg K. Increased nuchal translucency with normal karyotype: a follow-up study of 100 cases supplemented with CGH and MLPA analyses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 34 (6): 618-22.
40. Albertson D.G., Pinkel D. Genomic microarrays in human genetic disease and cancer. *Hum Mol Genet.* 2003; 15 (12): 145-52.
41. Feuk L., Carson A.R., Scherer S.W. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2006; 7 (2): 85-97.
42. Iafrate A.J., Feuk L., Rivera M.N., Listewnik M.L., Donahoe P.K., Qi Y., Scherer S.W., Lee C. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* 2004; 36 (9): 949-51.
43. Vissers L.E., de Vries B.B., Osoegawa K., Janssen I.M., Feuth T., Choy C.O., Straatman H., van der Vliet W., Huys E.H., van Rijk A., Smeets D., van Ravenswaaij-Arts C.M., Knoers N.V., van der Burgt I., de Jong P.J., Brunner H.G., van Kessel A.G., Schoenmakers E.F., Veltman J.A. Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *J Hum Genet.* 2003; 73 (6): 1261-70.
44. Brady P.D., Vermeesch J.R. Genomic microarrays: a technology overview. *Prenat Diagn.* 2012; 32 (4): 336-43.
45. Evangelidou P., Alexandrou A., Moutafi M., Ioannides M., Antoniou P., Koumbaris G., Kallikas I., Velissariou V., Sismani C., Patsalis P.C. Implementation of high resolution whole genome array CGH in the prenatal clinical setting: advantages, challenges, and review of the literature. *Biomed Res Int*. 2013.
46. Lichtenbelt K.D., Knoers N.V., Schuring-Blom G.H. From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis. *Cytogenet Genome Res*. 2011; 135 (3-4): 241-50.

REFERENCES

1. Kokhno N.I. *Congenital lung disease of the fetus (during pregnancy, diagnosis and outcomes).* Avtoref.diss…kand. med. nauk. Moscow: 2005.(in Russian)
2. Laekoo K., Mngongo C.,AmehE.A., BrickierS.W.*Congenital cystic lung lesion. Paediatric surgery*. Seattle, WA, USA: GLOBAL HELP Organization. 2011: 287-91.
3. Kaganov S. YU., Rozinova N.N. The place of congenital and hereditary pathologies in the pulmonology of children's age. In: *Congenital and hereditary lung diseases in children* [*Vroschdennye I nasledstvennye zabolevaniya legkich u detey*]. Moscow: Medicina, 1986: 14-9. (in Russian)
4. Rozinova N.N., Mizernitskiy YU.L. *Chronic lung diseases in child ren*[*Khronicheskiezabolevaniyalegkich u detey]*. Moscow: Praktika, 2011.(in Russian)
5. *Classification of the clinical forms of bronchopulmonary diseases in children. [Klassifikatsiya klinicheskikh form bronkholegochnykh zabolevaniy u detey]*. Moscow: Rossiyskoe respiratornoe obschestvo; 2009.
6. Gonzaga S. Cystic adenomatoid malformation are induced by localized FGF10 overexpression in fetal rat lung. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2008; 39(3): 346-55.
7. Feng A., Cai H., Zhang Q. Y.Congenital cystic adenomatoid malformation of lung in adults: 2 rare cases report and review of the literature. *Diagnostic Pathology*. 2012; 7: 3.
8. Jonathan L.A. Callaway, Lisa G. Shaffer, Lyn S. Chitty, Jill A. Rosenfeld, John A. Crolla. *The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature.* Prenatal diagnosis, 2012/
9. Ronald J., Christa Lese Martin, Brynn Levy. Chromosomal Microarray versus karyotyping for Prenatal Diagnosis. *The New England Journal of Medicine*.2012.
10. Sarah T. South, Charles Lee. Ahen N. Lamb, Anne W.ACMG standards and guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. Genetic in Medicine. *Official J. of the American Col. of Med. Genetics and Genom,* 2013.
11. Arnason U. 50 years after–examination of some circumstances around the establishment of the correct chromosome number of man. *Hereditas.* 2006; 143: 202-11.
12. Jacobs Pa, Strong J.A. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature*. 1959; 31: 183 (4657): 302-3.
13. Nowell P.C., Croce C.M. Chromosomal approaches to the molecular basis of neoplasia. *Symp Fundam Cancer Res*. 1986; 39: 17-29.
14. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 1971; 30: 2 (7731): 971-2.
15. Pardue M.L., Gall J.G. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1969; 64 (2): 600-4.
16. Langer P.R., Waldrop A.A., Ward DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981; 78 (11): 6633-7.
17. Hiraoka Y., Sedat J.W., Agard D.A. The use of a charge-coupled device for quantitative optical microscopy of biological structures. *Science*. 1987; 2: 238 (4823): 36-41.
18. Pinkel D., Straume T., Gray J.W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83 (9): 2934-8.
19. Telenius H., Carter N.P., Bebb C.E., Nordenskjöld M., Ponder B.A., Tunnacliffe A. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics*. 1992; 13 (3): 718-25.

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2019-23-2-78-85
Review

20. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F., Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992; 30: 258 (5083): 818-21.
21. Solinas-Toldo S., Lampel S., Stilgenbauer S., Nickolenko J., Benner A., Dohner H., Cremer T., Lichter P. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997; 20 (4): 399-407.
22. Snijders A.M., Nowak N., Segraves R., Blackwood S., Brown N., Conroy J., Hamilton G., Hindle A.K., Huey B., Kimura K., Law S., Myambo K., Palmer J., Ylstra B., Yue J.P., Gray J.W., Jain A.N., Pinkel D., Albertson D.G. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat Genet*. 2001; 29 (3): 263-4.
23. Fiegler H., Gribble S.M., Burford D.C., Carr P., Prigmore E., Porter K.M., Clegg S., Crolla J.A., Dennis N.R., Jacobs P., Carter N.P. Array painting: a method for the rapid analysis of aberrant chromosomes using DNA microarrays. *J Med Genet.* 2003; 40 (9): 664-70.
24. Ishkanian A.S., Malloff C.A., Watson S.K., DeLeeuw R.J., Chi B., Coe B.P., Snijders A., Albertson D.G., Pinkel D., Marra M.A., Ling V., MacAulay C., Lam W.L. A tiling resolution DNA microarray with complete coverage of the human genome. *Nat Genet*. 2004; 36 (3):299-303.
25. Mantripragada K.K., Buckley P.G., de Ståhl T.D., Dumanski J.P. Genomic microarrays in the spotlight. *Drug Discov Today*. 2004; 15: 9 (24): 45-52.
26. Rouillard J.M., Herbert C.J., Zuker M. Oligo Array: genome-scale oligonucleotide design for microarrays. *Bioinformatics*. 2002; 18 (3): 486-7.
27. Le Scouarnec S., Gribble S.M. Characterising chromosome rearrangements: recent technical advances in molecular cytogenetics. *Heredity.* 2012; 108 (1): 75-85.
28. Wiszniewska J., Bi W., Shaw C., Stankiewicz P., Kang S.H., Pursley A.N.., Lalani S, Hixson P., Gambin T., Tsai C.H., Bock H.G., Descartes M., Probst F.J., Scaglia F., Beaudet A.L., Lupski J.R., Eng C., Cheung S.W., Bacino C., Patel A. Combined array CGH plus SNP genome analyses in a single assay for optimized clinical testing. *Eur J Hum Genet*. 2014; 22 (1): 79-87.
29. Greisman H.A., Hoffman N.G., Yi H.S. Rapid high-resolution mapping of balanced chromosomal rearrangements on tiling CGH arrays. *J Mol Diagn*. 2011; 13 (6): 621-33.
30. Geurts R., de Jong H. Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) on pachytene chromosomes as a tool for genome characterization. *Methods Mol Biol*. 2013; 1069: 15-24.
31. Stumm M., Wegner R.D., Bloechle M., Eckel H. Interphase M-FISH applications using commercial probes in prenatal and PGD diagnostics. C*ytogenet Genome Res*. 2006; 114 (3-4): 296-301.
32. Liehr T., Ewers E., Kosyakova N., Klaschka V., Rietz F., Wagner R., Weise A. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn*. 2009; 9 (4): 317-24.
33. Aubert G., Lansdorp P.M. Telomeres and aging. *Physiol Rev*. 2008; 88 (2): 557-79.
34. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F., Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* 1992; 30: 258 (5083): 818-21.
35. Gebhart E. Comparative genomic hybridization (CGH): ten years of substantial progress in human solid tumor molecular cytogenetics. *Cytogenet Genome Res.* 2004; 104 (1-4): 352-8.
36. Carless M. Analysis of genomic aberrations using comparative genomic hybridization of metaphase chromosomes. *Methods Mol Biol.* 2009; 523: 177-202.
37. Lestou V.S., Lomax B.L., Barrett I.J., Kalousek D.K. Screening of human placentas for chromosomal mosaicism using comparative genomic hybridization. *Teratology*. 1999; 59 (5): 325-30.
38. Kirchhoff M., Rose H., Lundsteen C. High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics. *J Med Genet*. 2001; 38 (11): 740-4.
39. Schou K.V., Kirchhoff M., Nygaard U., Jorgensen C., Sundberg K. Increased nuchal translucency with normal karyotype: a follow-up study of 100 cases supplemented with CGH and MLPA analyses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 34 (6): 618-22.
40. Albertson D.G., Pinkel D. Genomic microarrays in human genetic disease and cancer. *Hum Mol Genet.* 2003; 15 (12): 145-52.
41. Feuk L., Carson A.R., Scherer S.W. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2006; 7 (2): 85-97.
42. Iafrate A.J., Feuk L., Rivera M.N., Listewnik M.L., Donahoe P.K., Qi Y., Scherer S.W., Lee C. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* 2004; 36 (9): 949-51.
43. Vissers L.E., de Vries B.B., Osoegawa K., Janssen I.M., Feuth T., Choy C.O., Straatman H., van der Vliet W., Huys E.H., van Rijk A., Smeets D., van Ravenswaaij-Arts C.M., Knoers N.V., van der Burgt I., de Jong P.J., Brunner H.G., van Kessel A.G., Schoenmakers E.F., Veltman J.A. Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *J Hum Genet.* 2003; 73 (6): 1261-70.
44. Brady P.D., Vermeesch J.R. Genomic microarrays: a technology overview. *Prenat Diagn.* 2012; 32 (4): 336-43.
45. Evangelidou P., Alexandrou A., Moutafi M., Ioannides M., Antoniou P., Koumbaris G., Kallikas I., Velissariou V., Sismani C., Patsalis P.C. Implementation of high resolution whole genome array CGH in the prenatal clinical setting: advantages, challenges, and review of the literature. *Biomed Res Int*. 2013.
46. Lichtenbelt K.D., Knoers N.V., Schuring-Blom G.H. From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis. *Cytogenet Genome Res*. 2011; 135 (3-4): 241-50.

Поступила 30 октября 2018
Принята в печать 04 февраля 2019